



UNIwersytet Medyczny
IM. PIASTÓW ŚLĄSKICH WE WROCLAWIU

Lek. Tomasz Sędziak

**Kliniczne implikacje mutacji w genie
KRAS i BRAF fenotypu metylatora
oraz niestabilności mikrosatelitarnej
w sporadycznym raku jelita grubego**

Rozprawa na stopień doktora nauk medycznych

Promotor

Dr hab. med. Marek Bębenek

Recenzenci

Prof. zw. dr hab. n. med. Jerzy Kołodziej

Kierownik Katedry i kliniki Chirurgii Klatki Piersiowej –
Wydziału Lekarskiego Kształcenia Podyplomowego
we Wrocławiu

Prof. dr hab. n. med. Wojciech Zegarski

Kierownik Katedry i Kliniki Chirurgii Onkologicznej
Uniwersytetu Mikołaja Kopernika COLLEGIUM MEDICUM
im. Ludwika Rydygiera w Bydgoszczy

Curriculum Vitae

Data i miejsce urodzenia

10.10.1968 Gubin

Doświadczenie zawodowe

Od **04.05.2006** starszy asystent Chirurgii Onkologicznej I Dolnośląskiego Centrum Onkologii w zespole dr hab. med. Marka Bębenka

Od **12.03.2009** orzecznik i biegły sądowy dla Dolnośląskiego Wojewódzkiego Ośrodka Medycyny pracy we Wrocławiu

Od **01.02.2002** do **04.05.2006** starszy asystent Chirurgii Wielonarządowej 4 Wojskowego Szpitala z Polikliniką we Wrocławiu

Od **04.08.1997** do **01.02.2002** asystent Oddziału Chirurgicznego Z.O.Z w Bystrzycy Kłodzkiej.

Wykształcenie

27.11.2007 Specjalizacja z chirurgii onkologicznej

21.04.2005 Specjalizacja z chirurgii ogólnej (nowy tryb)

26.06.2004 Ukończone studia podyplomowe na Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu **Orzecznictwo i ubezpieczenia**

22.11.1999 Pierwszy stopień specjalizacji w chirurgii ogólnej

26.06.1996 Ukończone studia na Wydziale Lekarskim Akademii Medycznej im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Liczba opublikowanych prac

Liczba opublikowanych prac 2

Liczba doniesień zjazdowych 2

Wykaz prac

1 „ Ocena wartości klinicznej biopsji węzła
wartowniczego u pacjentów z czerniakiem skóry
i rakiem piersi“

Marek Bębenek, Marek Pudełko, Karol Cisarz,

Wiesław Tupikowski, Diana Jędrzejuk, Alicja Balcerzak,

Zbigniew Obuszko, Leszek Wojciechowski,

Anna Leszczyszyn-Stankowska, Rafał Szulc,

Radosław Tarkowski, Anna Antczak, Tomasz Sędziak,

Andrzej Milewicz

Onkol.Pol. 2007 T.10 nr 2; s.71-74

Pkt wewn.: 3.000

2 „Improper wound healing does not limit the application of abdominosacral amputation of the rectum (ASAR) in low-rectal cancer”

M. Bębenek, W. Tupikowski, K. Cisarż, L. Wojciechowski,
A. Stankowska, M. Pudełko, R. Tarkowski, T. Sędziak,
R. Szulc, B. Bednorz, B. Kapturkiewicz

Ann.Surg.Oncol. 2010 Vol.17 suppl.1; s.S99-S100 poz.P210

63rd Annual Cancer Symposium Society of Surgical Oncology

St. Louis, Missouri, March 3-7, 2010

IF: 4.130

3 „ Is (neo)adjuvant treatment necessary in stage II of low-rectal cancer patients subjected to abdominosacral amputation of the rectum (ASAR)?”

M. Bębenek, W. Tupikowski, K. Cisarż, A. Balcerzak,
L. Wojciechowski, A. Stankowska, R. Tarkowski, T. Sędziak,
R. Szulc, B. Bednorz, B. Kapturkiewicz

Ann.Surg.Oncol. 2010 Vol.17 suppl.1; s.S84 poz.P158

63rd Annual Cancer Symposium Society of Surgical Oncology

St. Louis, Missouri, March 3-7, 2010

4 „Znaczenie Regionalnych Ośrodków Onkologicznych w Polsce jako jednostek referencyjnych w poprawie rokowania chorych na nowotwory – przykład Dolnośląskiego Centrum Onkologii we Wrocławiu“

Marek Bębenek¹, Tomasz Sędziak¹, Bartłomiej Kapturkiewicz¹,
Jerzy Błaszczyk²

¹ Oddział Chirurgii Onkologicznej, Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu

² Zakład Epidemiologii i Dolnośląski Rejestr Nowotworów, Dolnośląskie Centrum Onkologii we Wrocławiu (in press)

Streszczenie

Wstęp

Różnorodność molekularnych szlaków etiopatogenetycznych nowotworów złośliwych jelita grubego skutkuje ich znaczną zmiennością fenotypową, a co za tym idzie – heterogennym rokowaniem. Stąd, jednym z kierunków w diagnostyce raka jelita grubego jest identyfikacja markerów molekularnych cechujących się znaczną trafnością i wysoką wartością prognostyczną.

Dane literaturowe wskazują, że nasza wiedza w tym zakresie jest wciąż niewielka, a wyniki dotychczasowych badań częstokroć stoją we wzajemnej sprzeczności.

Cel

W związku z powyższym, celem niniejszej pracy było określenie związku między częstością występowania niestabilności mikrosatelitarnej (MSI), mutacji w obrębie genów *KRAS* i *BRAF*, fenotypu metylatora (CIMP) oraz metylacji genu *hMLH1* a charakterystykami demograficznymi i klinicznymi pacjentów ze sporadycznym rakiem jelita grubego, w tym z zaawansowaniem klinicznym i histopatologicznym nowotworu. Szczegółowe problemy badawcze obejmowały ustalenie, czy na częstość występowania niestabilności mikrosatelitarnej, mutacji w obrębie genów *KRAS* i *BRAF*, fenotypu metylatora oraz metylacji genu *hMLH1* wywierają istotny wpływ:

- 1 wiek chorych,**
- 2 płeć pacjentów,**
- 3 umiejscowienie guza pierwotnego w prawej lub lewej połowie jelita grubego,**
- 4 wielkość guza pierwotnego oceniana w klasyfikacji TNM,**
- 5 stan regionalnych węzłów chłonnych oceniany na podstawie klasyfikacji TNM,**
- 6 występowanie przerzutów odległych oceniane na podstawie klasyfikacji TNM,**
- 7 stopień zaawansowania klinicznego nowotworu według WHO,**
- 8 stopień zaawansowania klinicznego nowotworu w klasyfikacji Dukesa, oraz**
- 9 stopień zróżnicowania histologicznego komórek guza pierwotnego.**

Ponadto oceniano, czy występowanie jednej spośród Analizowanych anomalii genetycznych wiąże się z istotnie częstszym wykrywaniem pozostałych.

Material i metoda

Badaniem objęto 105 pacjentów z rakiem jelita grubego (C18, C19, C20), leczonych w I Oddziale Chirurgii Onkologicznej Dolnośląskiego Centrum Onkologii we Wrocławiu w okresie od maja 2010 r. do maja 2012 r. Średni wiek uczestników badania wyniósł $64,7 \pm 10,9$ lat. Do badania kwalifikowano wyłącznie pacjentów rasy kaukaskiej, ze sporadycznym, pierwotnym rakiem jelita grubego. Kryteria wykluczenia obejmowały występowanie kryteriów amsterdamskich II, rozpoznanie polipowatości rodzinnej i obecność nowotworów mnogich.

Wyniki

W badanym materiale odnotowano 5 (4,8%) przypadków niestabilności mikrosatelitarnej, 7 (6,7%) przypadków występowania fenotypu metylatora oraz odpowiednio 5 (4,8%), 6 (5,7%) i 23 (21,9%) przypadki metylacji genu *hMLH1*, oraz mutacji genów *BRAF* i *KRAS*.

Wykazano istotny związek pomiędzy obecnością fenotypu metylatora i mutacji genu *BRAF* a wiekiem pacjentów; w obu przypadkach osoby z dodatnim wynikiem badania genetycznego okazały się istotnie starsze od pozostałych pacjentów.

Nie zaobserwowano znamiennej zależności pomiędzy płcią pacjentów a częstością występowania poszczególnych markerów genetycznych.

Komórki nowotworowe pochodzące z guzów zlokalizowanych w prawej połowie jelita grubego cechowały się istotnie częstszym występowaniem niestabilności mikrosatelitarnej, metylacji genu *hMLH1*, fenotypu metylatora i mutacji genu *BRAF*. Jedynym markerem genetycznym, który nie wykazywał istotnego związku z umiejscowieniem nowotworu w obrębie

jelita grubego, była częstość wykrywania mutacji genu *KRAS*. Stwierdzono istotną zależność pomiędzy obecnością niektórych markerów genetycznych a wybranymi charakterystykami klinicznymi guzów jelita grubego. Guzy z niestabilnością mikrosatelitarną lub mutacją genu *BRAF* istotnie częściej od pozostałych zmian cechowały się wielkością odpowiadającą stopniowi T4 w klasyfikacji TNM. W przypadku występowania niestabilności mikrosatelitarnej, metylacji genu *hMLH1* lub fenotypu metylatora, stan regionalnych węzłów chłonnych istotnie częściej oceniano jako stopień N2, a w przypadku mutacji genu *KRAS* – jako stopień N3 klasyfikacji TNM. Z kolei mutacja genu *BRAF* była jedynym markerem genetycznym wiążącym się z istotnie częstszym występowaniem przerzutów odległych (stopień M1 według klasyfikacji TNM). Związek badanych markerów z komponentami klasyfikacji TNM przekładał się na ich istotny wpływ na stopień zaawansowania według WHO: zaawansowanie guzów występujących u pacjentów z niestabilnością mikrosatelitarną lub metylacją genu *hMLH1* istotnie częściej oceniano jako IIIC, a guzów w mutacją genu *BRAF* – jako IV. Ponadto mutacja genu *BRAF* występowała istotnie częściej u chorych z rakiem jelita grubego o zaawansowaniu odpowiadającym stopniowi D w klasyfikacji Duke'a. Nie wykazano istotnego wpływu żadnego z analizowanych markerów genetycznych na stopień zróżnicowania histologicznego komórek sporadycznego raka jelita grubego. W komórkach nowotworów jelita grubego z niestabilnością mikrosatelitarną istotnie częściej niż w reszcie materiału występowała metylacja genu *hMLH1* oraz fenotyp metylatora. Te dwa ostatnie markery genetyczne znamienne częściej współistniały też z mutacjami w obrębie genu *BRAF*. Nie wykazano statystycznie istotnych zależności pomiędzy występowaniem mutacji genu *KRAS* a obecnością innych markerów genetycznych.

Wnioski

Na podstawie wyników opisanego powyżej badania zostały sformułowane następujące wnioski:

- 1 Na historię naturalną sporadycznego raka jelita grubego silniejszy wpływ wywierają parametry związane z niestabilnością mikrosatelitarną i oddziaływaniami epigenetycznymi.**
- 2 Występowanie zmian nowotworowych w prawej połowie jelita grubego pozwala wnioskować o występowaniu niestabilności mikrosatelitarnej i hipermetylacji.**
- 3 Stwierdzenie niestabilności mikrosatelitarnej i hipermetylacji przekłada się na gorsze rokowanie - zarówno w odniesieniu do wzrostu guza pierwotnego jak i jego potencjału do rozsiewu.**

